

Hyaluronidasehemmung durch Kastanienextrakt, Rutin und Azulen

von

MARTHA BÖHME

1962

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

Hyaluronidasehemmung durch Kastanienextrakt,

Rutin und Azulen

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Martha Böhme

aus

Augsburg

München 1962

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. Seitz

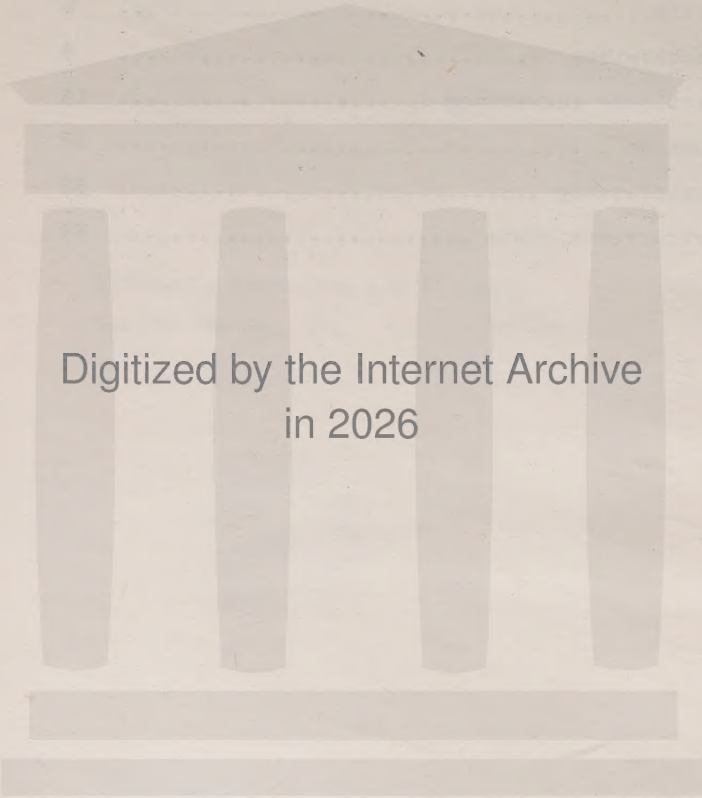
Dekan: *prof. Dr. W. Seitz*

Tag der Mündlichen Prüfung: *20. 2. 1962*



Inhaltsverzeichnis

Problematik	5
Methodik	6
Versuchsreihen	9
Statistische Auswertung	19
Diskussion	49
Zusammenfassung	52
Literaturverzeichnis	53



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555208_0095

P r o b l e m a t i k

Bei der Untersuchung hyaluronidasehemmender Substanzen konnte auch bei Pharmaka pflanzlicher Herkunft der Effekt der Hyaluronidasehemmung festgestellt werden. So haben G i g g l b e r g e r ¹ und G i g g l b e r g e r und K l e i b e l ² die hyaluronidasehemmende Wirkung eines i.v. applizierten Roßkastanienextraktes nachgewiesen. Von B e i l e r und M a r t i n ³ wird eine Hyaluronidasehemmung in vitro durch Rutin beschrieben. Bezüglich der in vivo hyaluronidasehemmenden Wirkung des Rutins finden sich widersprechende Angaben ³⁻⁵. Diese unterschiedlichen Ergebnisse werden von P a n t l i t s c h k o und K a i s e r ⁶ auf die Unzulänglichkeit der verwendeten biologischen Methoden zurückgeführt. Über eine hyaluronidasehemmende Wirkung des Kamillenwirkstoffes Azulen wurden keine Angaben gefunden. Lediglich der bekannte anti-phlogistische Effekt des Azulens läßt auch eine hemmende Wirkung auf die Hyaluronidaseaktivität vermuten. Im Zusammenhang mit der vorgelegten Arbeit interessieren Roßkastanienextrakt, Rutin und Azulen, weil sie in einem Badezusatz "Vitabad" enthalten sind, dessen perkutane Wirksamkeit mit Hilfe von Aktivitätsbestimmungen der

Hyaluronidase geprüft werden sollte. Zunächst war zu untersuchen, ob die vom Roßkastanienextrakt und vom Rutin bekannte hyaluronidasehemmende Wirkung auch bei perkutaner Anwendung nachzuweisen ist. Daneben wurde geprüft, ob eine perkutane Applikation von Azulen eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität sichtbar werden läßt.

M e t h o d i k

Männliche weiße Ratten im Gewicht von 155-215 g wurden nach Enthaarung der Bauchhaut 30 Minuten bei 35°C gebadet. Das Badewasser enthielt dabei auf 10 l Wasser 650 mg Vitabad (Versuchsreihe 1). Diese Konzentration entspricht der therapeutisch empfohlenen Verdünnung. 10 g Vitabad enthalten neben anderen Wirkstoffen (Vitamin A, Vitamin E, ungesättigte Fettsäuren, Pantothen-Alkohol, Inosit, Chlorophyllin, ätherische Öle und waschaktive Substanzen) 150 mg 60 %igen Roßkastanienextrakt, 16,5 mg Rutin und 40 mg Azulen. Entsprechend diesem Wirkstoffverhältnis wurden die einzelnen Substanzen gesondert in Form eines Bades verabreicht.

Zur Bereitung dieses Bades wurden in je 10 l Wasser 9,75 mg Roßkastanienextrakt (Versuchsreihe 2), bzw. 1,072 mg Rutin (Versuchsreihe 3), bzw. 2,60 mg Azulen (Versuchsreihe 4) gelöst. (Zur Lösung des Rutins war eine Spur Na_2CO_3 erforderlich). Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde nach unten beschriebener Methode, die von Mathies und Mitarbeitern⁷⁻¹² bereits mehrfach angewandt wurde, zu verschiedenen Zeiten nach Beendigung des Bades bestimmt. Alle Versuche wurden in Evipan-Narkose (30 mg Evipan/100 g Ratte subkutan) durchgeführt. Die Badeprozedur erfolgte in Drahtkäfigen, die eine perorale Aufnahme der Badeflüssigkeit und damit eine enterale Resorption unmöglich machten. Die Bauchhaut der Ratten war vor Beginn der Versuche mit Pilca enthaart worden, um eine größere Kontaktfläche mit dem Bad zu schaffen und die Ausführung des Quaddeltestes zu ermöglichen. Vor und zu verschiedenen Zeiten nach den einzelnen Bädern wurde je eine Farbstoff-Quaddel mit 0,1 ccm einer 0,6 %igen Evansblaulösung und je eine Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel mit ebenfalls 0,1 ccm der gleichen Farbstofflösung, in der 7,5 I.E. Hyaluronidase (Kinetin) gelöst waren, streng intrakutan in die Bauchhaut gesetzt. Jeweils 10 Minuten

nach der Injektion wurden die Konturen des Farbstoff-fleckes auf einen Zelluloidstreifen übertragen und der Flächeninhalt planimetrisch ausgemessen.

Berechnung der prozentualen Hemmung

Naturgemäß weist die Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel eine raschere Ausbreitung auf als die reine Farbstoff-Quaddel, dagegen zeigt sie nach Applikation hyaluronidasehemmender Substanzen eine Hemmung der Ausbreitung. Zur Berechnung der prozentualen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde die Ausbreitung der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel vor dem Bad einer 0 %igen Hemmung, die der reinen Farbstoff-Quaddel vor dem Bad einer 100 %igen Hemmung gleichgesetzt. Die Hemmung der Farbstoff + Hyaluronidase-Quaddel nach dem Bad wurde auf den hiermit festgelegten Maßstab bezogen.

V e r s u c h s r e i h e n

1. V e r s u c h s r e i h e

Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde nach oben angegebener Methode 20 und 40 Min. (Versuchsreihe 1a), 30 und 60 Min. (Versuchsreihe 1b), 90 und 120 Min. (Versuchsreihe 1c), nach dem Bad der Ratten mit Vitabad-Zusatz ermittelt. Das Badewasser enthielt dabei 650 mg Vitabad in 10 l Wasser. Die Versuchsergebnisse sind in Tabelle 1-3 und Abbildung 1 zusammengestellt.

2. V e r s u c h s r e i h e

Zur Bereitung des Bades wurden 9,75 mg Roßkastanienextrakt in 10 l Wasser gelöst. Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung erfolgte 20 und 40 Min. (Versuchsreihe 2a), 30 und 60 Minuten (Versuchsreihe 2b), 90 und 120 Min. (Versuchsreihe 2c) nach Beendigung des Bades. Die Ergebnisse zeigen Tabelle 4-6 und Abbildung 1.

3. V e r s u c h s r e i h e

Das Bad bestand aus einer Lösung von 1,0725 mg Rutin in 10 l Wasser. Die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität wurde 20 und 40 Min. (Versuchsreihe 3a), 30 und 60 Min.

(Versuchsreihe 3b), 90 und 120 Min. (Versuchsreihe 3c) nach Beendigung des Bades bestimmt. Die gefundenen Werte sind in Tabelle 7-9 und Abbildung 1 dargestellt.

4. V e r s u c h s r e i h e

Das Badewasser enthielt 2,60 mg Azulen auf 10 l Wasser. Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung erfolgte 20 und 40 Min. (Versuchsreihe 4a), 30 und 60 Min. (Versuchsreihe 4b), 90 und 120 Min. (Versuchsreihe 4c) nach Beendigung des Bades. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 10-12 und Abbildung 1 ersichtlich.

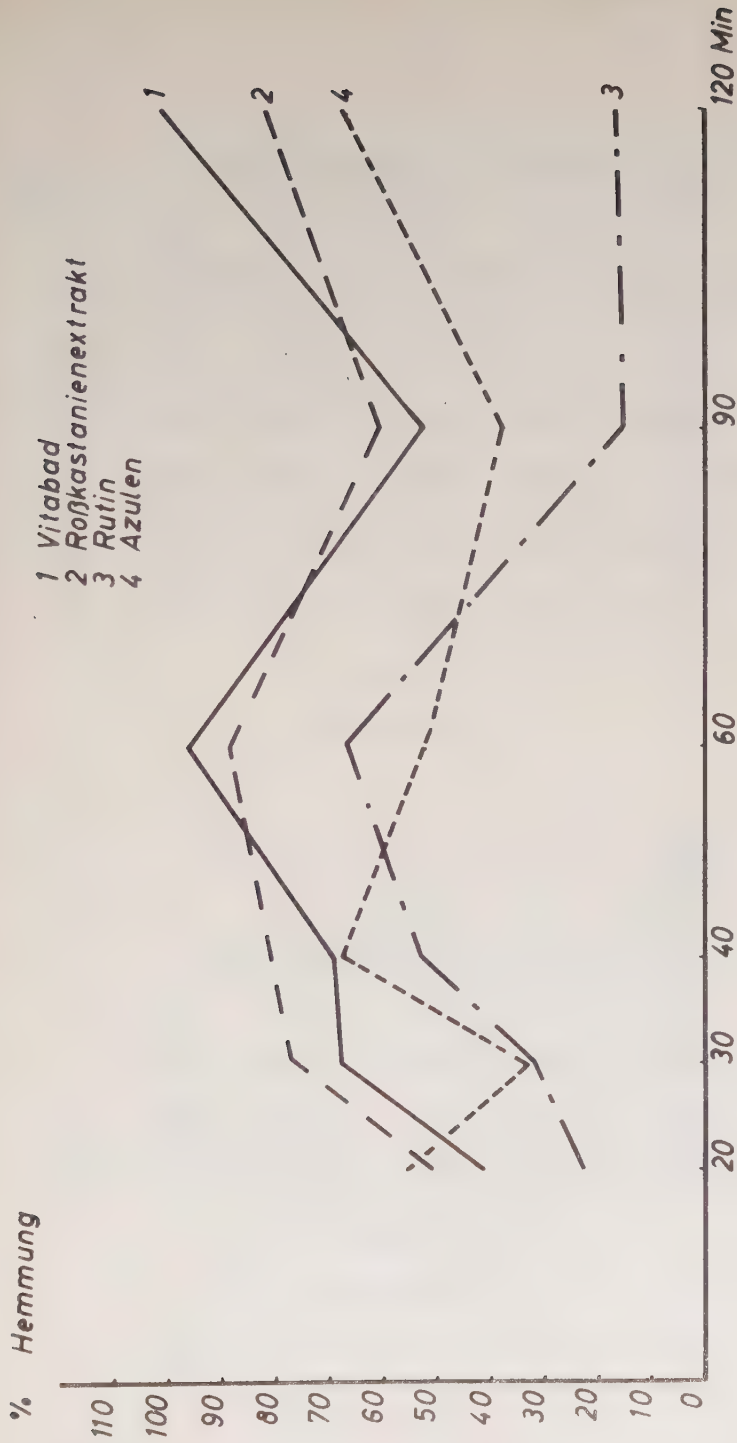


Abbildung 1

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	20 Min.		40 Min.	20 Min.		40 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
	650 mg Vitabad/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C					
155	135 mm ²	130 mm ²	121 mm ²	227 mm ²	225 mm ²	199 mm ²
215	159 mm ²	128 mm ²	126 mm ²	220 mm ²	172 mm ²	130 mm ²
215	128 mm ²	124 mm ²	124 mm ²	222 mm ²	175 mm ²	158 mm ²
205	130 mm ²	120 mm ²	112 mm ²	228 mm ²	193 mm ²	164 mm ²
215	140 mm ²	123 mm ²	118 mm ²	226 mm ²	200 mm ²	189 mm ²
185	142 mm ²	103 mm ²	120 mm ²	240 mm ²	180 mm ²	168 mm ²
175	119 mm ²	116 mm ²	97 mm ²	205 mm ²	185 mm ²	155 mm ²

Tabelle 1
(Versuchsreihe 1a)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	30 Min.		60 Min.	30 Min.		60 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
	650 mg Vitabad/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C					
170	137 mm ²	123 mm ²	110 mm ²	227 mm ²	172 mm ²	138 mm ²
175	140 mm ²	122 mm ²	113 mm ²	232 mm ²	168 mm ²	146 mm ²
175	134 mm ²	114 mm ²	95 mm ²	228 mm ²	164 mm ²	140 mm ²
155	139 mm ²	130 mm ²	96 mm ²	230 mm ²	163 mm ²	138 mm ²

Tabelle 2
(Versuchsreihe 1b)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	90 Min.		120 Min.	90 Min.		120 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
650 mg Vitabad/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
205	139 mm ²	110 mm ²	98 mm ²	235 mm ²	180 mm ²	149 mm ²
165	140 mm ²	132 mm ²	100 mm ²	238 mm ²	185 mm ²	141 mm ²
155	134 mm ²	117 mm ²	98 mm ²	230 mm ²	184 mm ²	116 mm ²
165	133 mm ²	112 mm ²	93 mm ²	235 mm ²	181 mm ²	140 mm ²
145	139 mm ²	115 mm ²	-	227 mm ²	181 mm ²	-

Tabelle 3
(Versuchsreihe 1c)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	20 Min.		40 Min.	20 Min.		40 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
9,75 mg Roßkastanienextrakt/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
175	105 mm ²	125 mm ²	94 mm ²	190 mm ²	157 mm ²	137 mm ²
190	140 mm ²	140 mm ²	128 mm ²	200 mm ²	160 mm ²	140 mm ²
195	131 mm ²	104 mm ²	94 mm ²	233 mm ²	164 mm ²	138 mm ²
195	117 mm ²	99 mm ²	87 mm ²	187 mm ²	170 mm ²	152 mm ²
175	148 mm ²	147 mm ²	127 mm ²	229 mm ²	145 mm ²	129 mm ²

Tabelle 4
(Versuchsreihe 2a)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	vor	30 Min. nach	60 Min. nach	vor	30 Min. nach	60 Min. nach
9,75 mg Roßkastanienextrakt/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
185	119 mm ²	112 mm ²	104 mm ²	190 mm ²	134 mm ²	126 mm ²
165	148 mm ²	133 mm ²	92 mm ²	237 mm ²	169 mm ²	168 mm ²
175	147 mm ²	104 mm ²	100 mm ²	230 mm ²	160 mm ²	153 mm ²
170	114 mm ²	100 mm ²	96 mm ²	240 mm ²	214 mm ²	203 mm ²
165	130 mm ²	120 mm ²	117 mm ²	200 mm ²	146 mm ²	140 mm ²

Tabelle 5
(Versuchsreihe 2b)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	vor	90 Min. nach	120 Min. nach	vor	90 Min. nach	120 Min. nach
9,75 mg Roßkastanienextrakt/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
180	118 mm ²	84 mm ²	80 mm ²	239 mm ²	159 mm ²	146 mm ²
185	144 mm ²	89 mm ²	80 mm ²	229 mm ²	167 mm ²	141 mm ²
185	126 mm ²	94 mm ²	90 mm ²	193 mm ²	168 mm ²	153 mm ²
180	126 mm ²	92 mm ²	90 mm ²	220 mm ²	158 mm ²	145 mm ²
180	137 mm ²	90 mm ²	80 mm ²	217 mm ²	150 mm ²	142 mm ²

Tabelle 6
(Versuchsreihe 2c)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	20 Min.		40 Min.	20 Min.		40 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
1,0725 mg Rutin/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
205	125 mm ²	104 mm ²	109 mm ²	240 mm ²	214 mm ²	190 mm ²
175	124 mm ²	113 mm ²	103 mm ²	203 mm ²	188 mm ²	146 mm ²
180	136 mm ²	120 mm ²	127 mm ²	221 mm ²	200 mm ²	180 mm ²
175	123 mm ²	140 mm ²	133 mm ²	232 mm ²	205 mm ²	180 mm ²
185	126 mm ²	120 mm ²	98 mm ²	238 mm ²	210 mm ²	175 mm ²

Tabelle 7
(Versuchsreihe 3a)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	30 Min.		60 Min.	30 Min.		60 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
1,0725 mg Rutin/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
170	155 mm ²	146 mm ²	120 mm ²	203 mm ²	192 mm ²	160 mm ²
155	125 mm ²	144 mm ²	120 mm ²	243 mm ²	228 mm ²	186 mm ²
165	128 mm ²	145 mm ²	100 mm ²	228 mm ²	160 mm ²	140 mm ²
195	113 mm ²	120 mm ²	100 mm ²	200 mm ²	180 mm ²	160 mm ²
195	100 mm ²	140 mm ²	123 mm ²	200 mm ²	164 mm ²	140 mm ²
155	106 mm ²	119 mm ²	100 mm ²	217 mm ²	180 mm ²	143 mm ²

Tabelle 8
(Versuchsreihe 3b)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	90 Min.		120 Min.	90 Min.		120 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
1,0725 mg Rutin/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
175	110 mm ²	97 mm ²	125 mm ²	190 mm ²	185 mm ²	195 mm ²
175	115 mm ²	137 mm ²	100 mm ²	219 mm ²	200 mm ²	188 mm ²
185	120 mm ²	120 mm ²	130 mm ²	184 mm ²	162 mm ²	180 mm ²
195	140 mm ²	150 mm ²	140 mm ²	217 mm ²	224 mm ²	197 mm ²
185	124 mm ²	110 mm ²	100 mm ²	200 mm ²	184 mm ²	184 mm ²

Tabelle 9
(Versuchsreihe 3c)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	20 Min.		40 Min.	20 Min.		40 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
2,60 mg Azulen/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C						
165	110 mm ²	120 mm ²	110 mm ²	219 mm ²	152 mm ²	137 mm ²
185	120 mm ²	108 mm ²	99 mm ²	182 mm ²	152 mm ²	148 mm ²
185	104 mm ²	110 mm ²	120 mm ²	200 mm ²	155 mm ²	147 mm ²
175	116 mm ²	116 mm ²	110 mm ²	185 mm ²	144 mm ²	135 mm ²
175	112 mm ²	113 mm ²	110 mm ²	214 mm ²	149 mm ²	130 mm ²

Tabelle 10
(Versuchsreihe 4a)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	30 Min.		60 Min.	30 Min.		60 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
	2,60 mg Azulen/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C					
185	121 mm ²	117 mm ²	110 mm ²	198 mm ²	160 mm ²	160 mm ²
165	137 mm ²	130 mm ²	110 mm ²	210 mm ²	173 mm ²	154 mm ²
175	123 mm ²	100 mm ²	94 mm ²	175 mm ²	161 mm ²	155 mm ²
170	116 mm ²	110 mm ²	105 mm ²	189 mm ²	171 mm ²	160 mm ²
165	106 mm ²	109 mm ²	104 mm ²	195 mm ²	172 mm ²	160 mm ²
205	120 mm ²	97 mm ²	89 mm ²	196 mm ²	180 mm ²	129 mm ²
185	124 mm ²	100 mm ²	-	202 mm ²	174 mm ²	-

Tabelle 11
(Versuchsreihe 4b)

Tier- gew. in g	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
	90 Min.		120 Min.	90 Min.		120 Min.
	vor	nach	nach	vor	nach	nach
	2,60 mg Azulen/10 l Wasser, 30 Min. bei 35°C					
180	120 mm ²	108 mm ²	93 mm ²	174 mm ²	148 mm ²	130 mm ²
185	110 mm ²	100 mm ²	94 mm ²	190 mm ²	168 mm ²	147 mm ²
185	142 mm ²	116 mm ²	110 mm ²	204 mm ²	172 mm ²	149 mm ²
180	116 mm ²	100 mm ²	93 mm ²	185 mm ²	154 mm ²	139 mm ²
180	113 mm ²	110 mm ²	95 mm ²	178 mm ²	160 mm ²	144 mm ²

Tabelle 12
(Versuchsreihe 4c)

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Statistisches Modell und Methodik

Primäre Aufgabe einer statistischen Auswertung von Versuchsergebnissen ist es, die Variabilität der beobachteten Werte in zwei Anteile zu zerlegen, und zwar in einen Anteil, der durch systematische Faktoren bedingt ist, und einen anderen Anteil, der durch zufällige bzw. experimentell nicht genau kontrollierbare Einflüsse bedingt ist. Im Falle der vorliegenden Versuche haben wir prinzipiell mit zwei systematischen Faktoren zu rechnen, nämlich einmal dem Einfluß des jeweiligen Versuchstieres und zum anderen dem Einfluß der jeweiligen Versuchszeit, zu der die Hyase-Aktivität bestimmt wurde. Die Erfahrung bei der Auswertung früherer Versuche, insbesondere bei der Auswertung systematischer Versuche, hat gezeigt, daß man diesen systematischen Einflüssen am besten gerecht wird, wenn man der statistischen Auswertung ein lineares Modell zugrunde legt. Hierbei wird angenommen, daß ein Meßwert

$$x(V, t)$$

der an dem Versuchstier V zu dem Zeitpunkt t bestimmt wurde, sich in der nachstehenden Form darstellen läßt:

$$x(V, t) = a_V + b_t + \epsilon$$

In diesem Ausdruck sollen a_V bzw. b_t Konstanten bedeuten, die nur von dem jeweiligen Versuchstier bzw. nur von der jeweiligen Versuchszeit abhängen und voneinander unabhängig

sind. Diese beiden Konstanten sollen den systematischen Einfluß des jeweiligen Versuchstieres bzw. der jeweiligen Versuchszeit auf den Meßwert zum Ausdruck bringen. Die Größe ϵ dagegen ist der Ausdruck desjenigen Anteils der Variabilität der Meßwerte, der durch zufällige Einflüsse bedingt wird und den wir weiterhin mit "Versuchs-Variabilität" bezeichnen. Das Modell ist nur dann vollständig, wenn man über diese Größe ϵ noch gewisse Voraussetzungen macht. Diese lauten dahingehend, daß ϵ eine normal verteilte Zufallsvariable ist mit dem Erwartungswert 0 und einer Varianz σ^2 , die nur von der Versuchsanordnung, nicht jedoch von dem jeweiligen Versuchstier bzw. von der jeweiligen Versuchszeit abhängt.

Aufgabe der statistischen Auswertung ist es, nach Festlegung des statistischen Modelles, optimale Schätzungen für die Konstanten, die in das Modell eingehen, und für die Versuchsvariabilität zu ermitteln. Dies geschieht im vorliegenden Falle nach der "Methode der kleinsten Quadrate", wobei die Versuchsvariabilität mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geschätzt wird. In den Varianz-Analysen ergibt sich diese Schätzung als "Rest-Varianz".

Hinsichtlich der Schätzung der Konstanten sei hier nur erwähnt, in welcher Weise die Konstanten b_t , die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehören, geschätzt werden. Es bedeutet hierzu $\bar{x}(t)$ das arithmetische Mittel aus allen Meßwerten, die zu dem Zeitpunkt t an sämtlichen Versuchstieren einer Versuchsreihe beobachtet wurden.

Bei passender Normierung der individuellen Konstanten a_v der einzelnen Versuchstiere, ist dann $\bar{x}(t)$ eine optimale Schätzung im Sinne der "Methode der kleinsten Quadrate" für die zum Zeitpunkt t gehörige Konstante q_t . Innerhalb einer Versuchsreihe liegt eine Veränderung der Hyase-Aktivität nur dann vor, wenn die zu verschiedenen Zeiten gehörigen Konstanten b_t sich voneinander unterscheiden. Zur statistischen Prüfung der Frage, ob in einer Versuchsreihe eine solche Veränderung der Hyase-Aktivität vorliegt, war daher zu prüfen, ob die beobachteten Meßwerte der Hypothese verträglich sind, daß die zu den verschiedenen Zeitpunkten des Versuches gehörigen Konstanten b_t untereinander gleich sind. Trifft dies nicht zu, so kann als statistisch gesichert gelten, daß während der Versuchsreihe eine Änderung in der Hyase-Aktivität auftritt. Bei der vorliegenden Versuchsanordnung wird diese Hypothese am zweckmäßigsten mit Hilfe einer zweifachen Varianz-Analyse geprüft, wobei die "Varianz zwischen den Zeiten", die sich hierbei ergibt, ein Maß für die Abweichung des experimentell beobachteten Sachverhaltes von der obigen Hypothese darstellt. Ist diese Varianzkomponente statistisch größer als die Schätzung der Versuchsvariabilität, die sogenannte Rest-Varianz, so ist die Prüf-Hypothese zu verwerfen, d.h. es liegt eine statistisch gesicherte Veränderung in der Hyase-Aktivität vor.

Der anderen, in der Varianz-Analyse auftretenden Varianz-Komponente "Varianz zwischen den Tieren" kommt unmittelbar

für die vorliegende Fragestellung keine Bedeutung zu. Sie drückt lediglich aus, in welcher Weise sich das "Reaktionsniveau" der einzelnen Versuchstiere voneinander unterscheidet. Ist sie statistisch wesentlich größer als die Versuchs-Variabilität, so bedeutet dies, daß zu verschiedenen Versuchstieren verschiedene Konstanten a_v gehören. Auf Grund des linearen Modelles kann die zu einem Versuchstier V gehörige Konstante a_v als das zu diesem Tier gehörige individuelle "Reaktionsniveau" gedeutet werden.

Liefert die Varianzanalyse einen statistisch gesicherten Hinweis dafür, daß während einer Versuchsreihe eine Veränderung in der Hyase-Aktivität eingetreten ist, so ist noch zu prüfen, zu welchem Zeitpunkt des Versuches gegenüber dem Ausgangswert diese Veränderung eingetreten ist und in welcher Richtung sie verlaufen ist, d.h. ob eine Vergrößerung oder eine Verminderung der Hyase-Aktivität stattgefunden hat. Die Richtung der Veränderung kann dadurch ermittelt werden, daß man die Differenz zwischen der zum Zeitpunkt t gehörigen Konstanten b_t und der Konstanten b_0 berechnet, die zum Ausgangswert gehört. Selbstverständlich lassen sich aus den Versuchen nur Schätzwerte für diese Differenz ermitteln, diese Schätzwerte stellen sich in Form der Mittelwertsdifferenzen

$$\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$$

dar, wobei $\bar{x}(0)$ derjenige Mittelwert ist, der zu dem unbeeinflussten Ausgangswert gehört. Eine Hemmung der Hyase-Aktivität zum Zeitpunkt t des Versuches liegt nur dann

vor, wenn die zugehörige Mittelwerts-Differenz $\delta \bar{x}(t)$ einen negativen Wert besitzt. Eine statistisch gesicherte Veränderung der Hyase-Aktivität zum Zeitpunkt t liegt nur dann vor, wenn die zugehörige Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ gesichert von 0 verschieden ist. Die Varianz-Analyse sagt nur darüber etwas aus, ob für mindestens einen Zeitpunkt eine gesicherte Mittelwertsdifferenz vorliegt, sie macht jedoch keine Aussage darüber, für welchen speziellen Zeitpunkt dies der Fall ist. Um auch diese Frage zu klären, muß im Anschluß an die Varianz-Analyse ein weiterer Test durchgeführt werden, wobei wir uns für den von D u n c a n entwickelten Test zur simultanen Prüfung mehrerer Mittelwertsdifferenzen im Anschluß an eine Varianz-Analyse entschieden.

Da aus Gründen der experimentellen Technik bei den vorliegenden Versuchen keine Doppelbestimmungen am gleichen Versuchstier zur gleichen Versuchszeit durchgeführt werden konnten (auf Grund der beschränkten Größe der Bauchhaut der Versuchstiere) kann die Richtigkeit des zugrunde gelegten statistischen Modelles nicht unmittelbar mit Hilfe der vorliegenden Versuche geprüft werden. Dabei ist unter "Richtigkeit" eine angemessene Übereinstimmung zwischen den Werten, die auf Grund des statistischen Modelles erwartet werden müßten und denjenigen Werten, die tatsächlich beobachtet worden sind, zu verstehen. Immerhin gibt es eine Möglichkeit zumindest abzuschätzen, ob das gewählte Modell vernünftig ist. Hierzu gingen wir folgendermaßen vor:

Die zum Zeitpunkt t einer Versuchsreihe an sämtlichen Versuchstieren gemessenen Werte weisen eine bestimmte Variabilität auf, als deren Maß wir die empirische Varianz s_t^2 dieser Meßwerte ansahen. Wenn das gewählte statistische Modell den realen Sachverhalt in angemessener Weise wiedergibt, muß erwartet werden, daß die zu verschiedenen Zeiten gehörigen empirischen Varianzen s_t^2 alles Schätzwerte der gleichen übergeordneten Varianz sind, d.h. daß sie untereinander homogen sein müssen. Ob diese Annahme zutrifft, kann mit Hilfe des BARTLETT-Tests geprüft werden. Bei allen Versuchsreihen wurde daher auch noch der BARTLETT-Test durchgeführt. Es sei jedoch bemerkt, daß es sich hier mehr um eine Plausibilitätsbetrachtung handelt als um einen statistischen Test zur Prüfung der Richtigkeit des Modelles.

Es sei noch bemerkt, daß wir die Auswertung der Ergebnisse für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff + Hyase-Quaddel getrennt vornahmen, da die Erfahrung gezeigt hat, daß sich die beiden Quaddel-Typen in unterschiedlicher Weise verhalten. Das zugrunde gelegte statistische Modell war jedoch in beiden Fällen das gleiche.

2. Darstellung der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Das Ergebnis der durchgeführten Varianz-Analysen haben wir in den Tabellen 13-24 dargestellt. Es bedeutet in den Schematas der Varianz-Analysen:

- n: die Zahl der Freiheitsgrade der Varianz-Komponente
- SAQ: das Summen-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente
- MAQ: das Mittlere-Abstands-Quadrat der Varianz-Komponente
- $F_{\text{emp.}}$: der Varianz-Quotient zwischen der jeweiligen Varianz-Komponente und der Versuchs-Variabilität (Rest-Varianz)
- p: die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Prüfverteilung.

Am Fuße jeder Varianz-Analyse ist das Ergebnis des BART-LETT-Tests angegeben, den wir zur Prüfung der Übereinstimmung zwischen dem gewählten Modell und dem realen Sachverhalt durchführten. Es bedeutet hierin n die Zahl der Freiheitsgrade der Chi-Quadrat-Verteilung, welcher die Prüfgröße $\chi_{\text{emp.}}^2$ genügt, wenn die Hypothese zutrifft, daß die verglichenen Varianzen s_t^2 untereinander homogen seien. Die Mittelwerte $\bar{x}(t)$ der zu jedem Zeitpunkt t einer Versuchsreihe beobachteten Werte, die empirischen Varianzen s_t^2 dieser Werte und die Mittelwertsdifferenzen $\delta \bar{x}(t) = \bar{x}(t) - \bar{x}(0)$ finden sich in den Tabellen 25-36. In diesen Tabellen ist außerdem das Ergebnis des DUNCAN-Tests für jeden Zeitpunkt in der Weise angegeben, daß angegeben wurde, mit welcher Irrtumswahrscheinlichkeit behauptet werden kann, daß die betreffende Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$ gesichert von 0 verschieden ist. Allerdings wurde diese Irrtumswahrscheinlichkeit nur dann angegeben, wenn sie nicht größer als 5% ist, da nur in

diesem Falle von einer statistischen Sicherung gesprochen werden kann. Von der Angabe einer prozentualen Hyase-Hemmung wurde abgesehen, da sich durch die starke Hemmung, welche auch die reine Farbstoff-Quaddel erfährt (s. unten) keine geeignete Basis zur Errechnung dieser Größe ergibt.

3. Diskussion der Ergebnisse der statistischen Auswertung

Der BARTLETT-Test ergab nur in zwei Fällen eine Prüfgröße $\chi^2_{\text{emp.}}$, deren Überschreitungswahrscheinlichkeit in der zugehörigen Prüfverteilung kleiner als 5% ist. Bei der Vielzahl der durchgeführten Tests (24 Tests) kann dieses Vorkommnis ein Verteilungseffekt sein. Es kann daher behauptet werden, daß zumindest in Hinsicht auf die Homogenität der Varianzen s_t^2 der real beobachtete Sachverhalt die Eigenschaft besitzt, die auf Grund des statistischen Modelles zu erwarten ist.

Aus den Varianz-Analysen, die ausschließlich der Untersuchung des Verhaltens der reinen Farbstoff-Quaddel dienen ergibt sich, daß dieses Verhalten sehr wesentlich von der jeweiligen Art des Bades und dem Zeitpunkt der Bestimmung der Hyase-Aktivität nach dem Bad abhängt. 20 und 40 Min. nach dem Azulen-Bad sowie 20 und 40 Min. bzw. 90 und 120 Min. nach dem Rutin-Bad weist die reine Farbstoff-Quaddel keine statistisch gesicherten Veränderungen gegenüber ihrem Ausgangswert auf. Dies ergibt sich daraus, daß in den zugehörigen Varianz-Analysen die Überschreitungswahrscheinlichkeit des Varianz-Quotienten $F_{\text{emp.}}$ größer

als 5% ist. In allen anderen Fällen jedoch ergibt sich eine gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel nach dem Bad gegenüber der Diffusionsgeschwindigkeit vor dem Bad. Der Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ in den Varianz-Analysen besitzt in diesen Fällen eine Überschreitungswahrscheinlichkeit, die wesentlich kleiner als 5% ist.

Hinsichtlich der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff + Hyase-Quaddeln liefern die Varianz-Analysen nur für die Zeitpunkte 90 und 120 Min. nach dem Rutin-Bad einen Hinweis dafür, daß die Diffusionsgeschwindigkeit nach dem Bad sich nicht wesentlich von derjenigen vor dem Bad unterscheidet. In allen anderen Fällen jedoch ergibt sich aus den Varianz-Analysen, daß nach dem Bad eine statistisch hoch gesicherte Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit der Farbstoff + Hyase-Quaddel eingetreten ist, d.h. durch das Bad wird die Hyaluronidase-Aktivität beeinflusst.

In welcher Weise die Hyaluronidase-Aktivität bzw. die Diffusionsgeschwindigkeit der reinen Farbstoff-Quaddel durch ein Bad beeinflusst wird, ergibt sich aus dem Vorzeichen der Mittelwertsdifferenz $\delta \bar{x}(t)$. Für die Farbstoff + Hyase-Quaddel ist dieses Vorzeichen durchwegs negativ, es liegt also zu allen Zeitpunkten eine Hemmung der Hyase-Aktivität gegenüber dem Ausgangswert vor. Bei der reinen Farbstoff-Quaddel liegen in einigen Fällen auch positive Vorzeichen vor, bei denen keine statistisch

gesicherte Veränderung der reinen Farbstoff-Quaddel nachgewiesen werden konnte. Aus den Ergebnissen des DUNCAN-Tests ergibt sich, daß in allen Versuchsreihen und zu allen Zeitpunkten - mit Ausnahme der Zeitpunkte 90 und 120 Min. nach dem Rutin-Bad, auf die bereits oben hingewiesen wurde - die Verringerung der Hyaluronidase-Aktivität nach dem Bad statistisch hoch gesichert ist. Für die reine Farbstoff-Quaddel ist die Veränderung in der Diffusionsgeschwindigkeit nach dem Bad für einige Zeitpunkte statistisch nur schwach gesichert (Irrtumswahrscheinlichkeit höchstens 5%).

Allgemein zeigt sich, daß nach jedem der 4 Bäder zunächst eine stetige Abnahme der Hyase-Aktivität feststellbar ist, wobei das Maximum bei dem Vita-Bad und dem Rutin-Bad 60 Min. nach dem Bad, bei den zwei anderen Bädern bereits 40 Min. nach dem Bad erreicht wird. Hieran schließt sich dann wieder ein leichtes Ansteigen der Hyase-Aktivität an, allerdings tritt zum Zeitpunkt 120 Min. nach dem Bad nochmals ein Maximum in der Hemmung der Hyase-Aktivität bei allen Bädern mit Ausnahme des Rutin-Bades ein. Vergleicht man den Verlauf der Hemmung der Hyase-Aktivität nach den 4 Bädern miteinander, so ergeben sich keinerlei Hinweise dafür, daß die Wirkung des Vita-Bades auf die Hyase-Aktivität ein Kumulierungseffekt der Wirkungen der einzelnen Komponenten des Vita-Bades ist. Im wesentlichen ist der Ablauf des Geschehens bei den Komponenten völlig analog demjenigen bei der Gesamt-Substanz, lediglich das

Rutin-Bad scheint eine etwas andersartige Wirkung zu haben, da hier die Hemmung der Hyase-Aktivität nicht so lange anhält wie nach den anderen Bädern.

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	1,235	206	3,07	5,0%
Zwischen Zeiten	2	1,466	733	10,94	1,0%
Rest-Varianz	12	0,808	67		
Gesamt-Varianz	20	3,509	175		
n = 2	$\chi^2_{\text{emp.}} = 0,837$		50% < p < 70%		

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	3,856	643	4,01	5,0%
Zwischen Zeiten	2	11,836	5,918	37,00	0,1%
Rest-Varianz	12	1,925	160		
Gesamt-Varianz	20	17,617	881		
n = 2	$\chi^2_{\text{emp.}} = 3,244$		10% < p < 20%		

Tabelle 13
(Versuchsreihe 1a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	199	66	1,88	-
Zwischen Zeiten	2	2,320	1,160	23,14	0,1%
Rest-Varianz	6	212	35		

Gesamt-Varianz 11 2,731 248

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 3,939$ 10% < p < 20%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	47	16	1,60	-
Zwischen Zeiten	2	16,629	8,315	100,00	0,1%
Rest-Varianz	6	62	10		

Gesamt-Varianz 11 16,738 1,522

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 1,119$ 50% < p < 70%

Tabelle 14

(Versuchsreihe 1b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	210	53	2,65	-
Zwischen Zeiten	2	3,960	1,980	99,00	0,1%
Rest-Varianz	8	162	20		

Gesamt-Varianz 14 4,332 309

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 6,510$ 5% < p < 10%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	308	77	1,48	-
Zwischen Zeiten	2	23,732	11,866	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	414	52		

Gesamt-Varianz 14 24,454 1,747

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 10,512$ 0,1% < p < 1,0%

Tabelle 15
(Versuchsreihe 1c)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	3,872	968	10,88	1,0%
Zwischen Zeiten	2	1,348	674	7,57	5,0%
Rest-Varianz	8	711	89		

Gesamt-Varianz 14 5,931 424

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,155$ 90% < p < 95%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	460	115	-	-
Zwischen Zeiten	2	12,447	6,224	24,22	0,1%
Rest-Varianz	8	2,056	257		

Gesamt-Varianz 14 14,963 1,069

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 4,767$ 5% < p < 10%

Tabelle 16
(Versuchsreihe 2a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	868	217	1,48	-
Zwischen Zeiten	2	2,248	1,124	7,65	5,0%
Rest-Varianz	8	1,175	147		
Gesamt-Varianz	14	4,291	306		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,918$ 50% < p < 70%					

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	8,617	2,154	23,67	0,1%
Zwischen Zeiten	2	11,361	5,681	62,43	0,1%
Rest-Varianz	8	731	91		
Gesamt-Varianz	14	20,709	1,479		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,918$ 50% < p < 70%					

Tabelle 17
(Versuchsreihe 2b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	209	52	1,06	-
Zwischen Zeiten	2	6,334	3,167	64,63	0,1%
Rest-Varianz	8	388	49		

Gesamt-Varianz 14 6,931 495

n = 2 $\chi^2_{emp.} = 4,167$ 10% < p < 20%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	295	74	-	-
Zwischen Zeiten	2	15,392	7,696	45,27	0,1%
Rest-Varianz	8	1,359	170		

Gesamt-Varianz 14 17,046 1,218

n = 2 $\chi^2_{emp.} = 5,758$ 5% < p < 10%

Tabelle 18
(Versuchsreihe 2c)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	988	247	2,60	-
Zwischen Zeiten	2	413	207	2,18	-
Rest-Varianz	8	758	95		
Gesamt-Varianz	14	2,159	154		
n=2	$\chi^2_{\text{emp.}} = 3,906$		10% < p < 20%		

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2,209	552	18,40	0,1%
Zwischen Zeiten	2	6,945	3,473	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	238	30		
Gesamt-Varianz	14	9,392	671		
n = 2	$\chi^2_{\text{emp.}} = 1,020$		50% < p < 70%		

Tabelle 19
(Versuchsreihe 3a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	2,124	425	3,27	-
Zwischen Zeiten	2	1,915	958	7,37	5,0%
Rest-Varianz	10	1,299	130		
Gesamt-Varianz	17	5,338	314		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 1,713$ 30% < p < 50%					

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	5	4,726	945	6,56	1,0%
Zwischen Zeiten	2	10,924	5,462	37,93	0,1%
Rest-Varianz	10	1,438	144		
Gesamt-Varianz	17	17,088	1,005		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,737$ 50% < p < 70%					

Tabelle 20
(Versuchsreihe 3b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2,153	538	2,92	-
Zwischen Zeiten	2	39	20	-	-
Rest-Varianz	8	1,470	184		

Gesamt-Varianz 14 3,662 262

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 1,436$ 30% < p < 50%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2,412	603	5,48	5,0%
Zwischen Zeiten	2	500	250	2,27	-
Rest-Varianz	8	877	110		

Gesamt-Varianz 14 3,789 271

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 4,469$ 10% < p < 20%

Tabelle 21

(Versuchsreihe 3c)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	46	12	-	-
Zwischen Zeiten	2	35	18	-	-
Rest-Varianz	8	413	52		

Gesamt-Varianz 14 494 35

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,636$ 70% < p < 80%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	406	102	-	-
Zwischen Zeiten	2	10,423	5,212	41,04	0,1%
Rest-Varianz	8	1,014	127		

Gesamt-Varianz 14 11,843 846

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 6,976$ 2% < p < 5%

Tabelle 22

(Versuchsreihe 4a)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	1,144	191	4,06	5,0%
Zwischen Zeiten	2	1,346	673	14,32	0,1%
Rest-Varianz	12	569	47		
Gesamt-Varianz	20	3,059	153		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,789$ 50% < p < 70%					

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	6	542	90	-	-
Zwischen Zeiten	2	6,010	3,005	28,89	0,1%
Rest-Varianz	12	1,248	104		
Gesamt-Varianz	20	7,800	390		
n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 1,262$ 50% < p < 70%					

Tabelle 23
(Versuchsreihe 4b)

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	869	217	9,43	1,0%
Zwischen Zeiten	2	1,356	678	29,48	0,1%
Rest-Varianz	8	183	23		
Gesamt-Varianz	14	2,408	172		

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 2,021$ 30% < p < 50%

Farbstoff + Hyase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1,030	258	15,18	0,1%
Zwischen Zeiten	2	4,972	2,486	100,00	0,1%
Rest-Varianz	8	136	17		
Gesamt-Varianz	14	6,138	438		

n = 2 $\chi^2_{\text{emp.}} = 0,676$ 70% < p < 80%

Tabelle 24
(Versuchsreihe 4c)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	136	162		
H_v	224	111		
E_{20}	121	82	- 15	1 %
H_{20}	190	335	- 34	1 %
E_{40}	117	97	- 19	1 %
H_{40}	166	518	- 58	1 %

Tabelle 25
(Versuchsreihe 1a)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	138	7		
H_v	229	5		
E_{30}	122	43	- 16	5 %
H_{30}	167	17	- 62	1 %
E_{60}	104	87	- 24	1 %
H_{60}	141	14	- 88	1 %

Tabelle 26
(Versuchsreihe 1b)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	137	11		
H_v	233	20		
E_{90}	117	76	- 20	1 %
H_{90}	182	5	- 51	1 %
E_{120}	97	7	- 40	1 %
H_{120}	136	156	- 97	1 %

Tabelle 27
(Versuchsreihe 1c)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	128	301		
H_v	208	474		
E_{20}	123	452	- 5	
H_{20}	159	86	- 49	1 %
E_{40}	106	394	- 22	5 %
H_{40}	139	69	- 69	1 %

Tabelle 28
(Versuchsreihe 2a)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	132	244		
H_v	219	522		
E_{30}	114	174	- 18	5 %
H_{30}	165	941	- 54	1 %
E_{60}	102	92	- 30	5 %
H_{60}	158	875	- 61	1 %

Tabelle 29
(Versuchsreihe 2b)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	130	105		
H_v	220	295		
E_{90}	90	14	- 40	1 %
H_{90}	160	96	- 60	1 %
E_{120}	84	30	- 46	1 %
H_{120}	145	22	- 75	1 %

Tabelle 30
(Versuchsreihe 2c)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	127	28		
H_v	227	232		
E_{20}	119	176	- 8	-
H_{20}	203	102	- 24	1 %
E_{40}	114	233	- 13	-
H_{40}	174	278	- 53	1 %

Tabelle 31
(Versuchsreihe 3a)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	121	390		
H_v	214	310		
E_{30}	136	161	+ 15	-
H_{30}	184	602	- 30	1 %
E_{60}	111	134	- 10	-
H_{60}	155	321	- 59	1 %

Tabelle 32
(Versuchsreihe 3b)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	122	131		
H_v	202	247		
E_{90}	123	445	+ 1	-
H_{90}	191	524	- 11	-
E_{120}	119	330	- 3	-
H_{120}	189	52	- 13	-

Tabelle 33
(Versuchsreihe 3c)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	112	37		
H_v	200	277		
E_{20}	113	23	+ 1	
H_{20}	150	17	- 50	1 %
E_{40}	110	55	- 2	
H_{40}	139	61	- 61	1 %

Tabelle 34
(Versuchsreihe 4a)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	121	87		
H_v	195	120		
E_{30}	109	135	- 12	1 %
H_{30}	170	52	- 25	1 %
E_{60}	102	64	- 19	1 %
H_{60}	154	126	- 41	1 %

Tabelle 35
(Versuchsreihe 4b)

	$\bar{x}(t)$	s_t^2	$\bar{x}(t) - \bar{x}(0)$	Sicherung
E_v	120	162		
H_v	186	137		
E_{90}	107	47	- 13	1 %
H_{90}	160	97	- 26	1 %
E_{120}	97	54	- 23	1 %
H_{120}	142	58	- 44	1 %

Tabelle 36
(Versuchsreihe 4c)

Zeit- punkt in Min.	Farbstoff-Quaddel		Farbstoff+Hyase- Quaddel		N	P	Hemmung	
	vor	nach	vor	nach				
	30 Minuten Wasserbad bei 35°C							
20	$\bar{x}$	120 mm ²	128 mm ²	248 mm ²	244 mm ²	4	-	3,6 %
30	$\bar{x}$	124 mm ²	134 mm ²	248 mm ²	247 mm ²	4	-	0,6 %
40	$\bar{x}$	143 mm ²	141 mm ²	253 mm ²	257 mm ²	4	-	-3,6 %
60	$\bar{x}$	143 mm ²	138 mm ²	253 mm ²	251 mm ²	4	-	2,0 %
90	$\bar{x}$	138 mm ²	138 mm ²	254 mm ²	262 mm ²	4	-	-7,6 %
120	$\bar{x}$	138 mm ²	143 mm ²	254 mm ²	250 mm ²	4	-	3,1 %

Tabelle 37

Hyaluronidasehemmung bei Normaltieren zu versch. Zeiten

	Leer- wert	0 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	90 Min.	120 Min.
Vitabad 650mg/10 l	22,7	20,6	26,8	27,6	19,7	20,1	19,6	17,8
Kast.Extrakt 9,75mg/10 l	22,7	26,7	25,5	25,4	24,1	22,0	24,5	22,9
Rutin 1,0725mg/10 l	22,7	21,1	18,3	19,7	24,9	25,5	25,1	23,4
Azulen 2,60mg/10 l	22,7	21,6	24,7	22,2	19,2	20,1	27,8	25,5

Tabelle 38

Katecholamingehalt der Nebenniere in g/100 g Tier nach Bad

D i s k u s s i o n

Die vom Roßkastanienextrakt und vom Rutin bekannte, einleitend beschriebene hyaluronidasehemmende Wirkung konnte auch bei perkutaner Einwirkung in Form von Bädern nachgewiesen werden. Auch die Badeapplikation von Azulen ließ eine deutliche Hemmung der Hyaluronidaseaktivität erkennen. Dementsprechend war die hyaluronidasehemmende Wirkung des gesamten Vitabades, das alle genannten Stoffe als Komponenten enthält, nachzuweisen. Die wirksamen Einzelkomponenten zeigten in ihrem zeitlichen Ablauf geringe Unterschiede im untersuchten Zeitraum von insgesamt 120 Minuten nach Beendigung des Bades. Von den Einzelkomponenten wies der Roßkastanienextrakt in der angewandten Konzentration die stärkste hyaluronidasehemmende Wirkung auf, die nur von dem Gesamt-Vitabad an Ausmaß übertroffen wurde. Eine eindeutige Summationswirkung war jedoch nicht nachzuweisen. Als Vergleichswerte können die in Tabelle 37 angeführten Untersuchungen von M a t h i e s ¹³ herangezogen werden, nach denen eine hyaluronidasehemmende Wirkung reiner Wasserbäder ohne Wirkstoffzusatz nicht nachgewiesen werden kann.

Damit wird gezeigt, daß dem hyaluronidasehemmenden Effekt der in dieser Arbeit untersuchten Substanzen keine Wärmewirkung des Bades zu Grunde liegt, sondern daß es sich um substanzspezifische Wirkungen handelt.

M a t h i e s und Mitarbeiter ¹⁴ haben in Rattenversuchen

nachweisen können, daß der Wirkungsmechanismus verschiedener hyaluronidasehemmender Substanzen an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark gebunden ist. So bestätigen die Versuchsergebnisse von B a s t a n i ¹⁵ die in dieser Arbeit nachgewiesene Hyaluronidasehemmung durch Kastanienextrakt, Rutin, Azulen und Vitabad. In Tabelle 38 sind die von B a s t a n i ¹⁵ gefundenen Werte des Katecholamingehaltes der Nebennieren nach Verabreichung der einzelnen Bäder dargestellt. Wertdifferenzen im Sinne eines statistisch gesicherten Abfalles des Katecholamingehaltes der Nebennieren resultieren naturgemäß aus Ausschüttung und gleichzeitiger Neubildung von Katecholaminen. Nach Untersuchungen von M a t h i e s ¹⁶ und S c h e u f e l e ¹⁷ genügt bereits eine Adrenalin- oder Noradrenalinmenge von 1 μ /100 g Ratte, um eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität sichtbar werden zu lassen. Daß diese Voraussetzungen bei allen Versuchssubstanzen erfüllt sind, wird durch die Versuche von B a s t a n i ¹⁵ gezeigt.

Mit dem damit erfolgten Nachweis einer Hemmung der Hyaluronidaseaktivität durch Vitabad erscheint eine versuchsweise therapeutische Anwendung bei rheumatischen Erkrankungen empfehlenswert.

Von verschiedenen Autoren wurde die beim Rheumatismus erhöhte Hyaluronidaseaktivität ¹⁸⁻³² bzw. eine Erniedrigung des Hyaluronidaseinhibitors Heparin ³³ oder eine erhöhte Heparintoleranz ³⁴ beschrieben. Ferner sind nach

D o r f m a n ³⁵, G o o d u n d G l i c k ³⁶, G r a i s
u n d G l i c k ³⁷ beim Rheumatismus unspezifische Hyslu-
ronidaseinhibitoren vermehrt, was von S t e p a n -
t s c h i t z ³⁸ ebenfalls als Zeichen der beim Rheuma-
tismus erhöhten Hyaluronidaseaktivität gedeutet wird.
Nach T e r b r ü g g e n ³⁹ hält der Abbau der Hyaluro-
nidase durch die zwar kompensatorisch vermehrten, aber
dennoch ungenügend vorhandenen Inhibitoren nicht Schritt
mit der Neubildung.

Für alle antirheumatischen Behandlungsmethoden konnte eine
hyaluronidasehemmende Wirkung nachgewiesen werden ⁴⁰, wo-
durch die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität als wichtiger
Teilleffekt der Antirheumatika wahrscheinlich gemacht wer-
den konnte. Moor- ^{7,8} und Schwefelbäder ⁴¹ haben ebenfalls
eine hyaluronidasehemmende Wirkung, ohne, wie die meisten
chemischen Antirheumatika, einen analgetischen Effekt zu
besitzen. Es erscheint demnach nicht ausgeschlossen, daß
auch das Vitabad bzw. seine in ihm enthaltenen hyaluroni-
dasehemmenden Komponenten bei zweckmäßiger Anwendung eine
antirheumatische Wirkung entfalten. Diese Annahme bedarf
jedoch der klinischen Bestätigung.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wurde die hyaluronidasehemmende Wirkung eines Roßkastanienextraktes, des Rutins und des Azulens sowie des Vitabades, in dem die genannten Einzelkomponenten enthalten sind, bei perkutaner Badeapplikation nachgewiesen. Bei parenteraler Gabe war die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eines Roßkastanienextraktes und des Rutins bereits bekannt.

Die Möglichkeit einer antirheumatischen Wirkung des Vitabades wird diskutiert.

Literaturverzeichnis

- 1) Giggelberger, H. : Dtsch.med.Wschr. 78,1439,(1953)
- 2) Giggelberger, H. u. Kleibel, F. : Klin.Wschr. (1953),457
- 3) Beiler u. Martin : J.of biol.Chem. 171,507,(1947)
- 4) Elster : Proc.Soc.exper.Biol.a.Med. 71,15,(1949)
- 5) Levitan : Proc.Soc.exper.Biol.a.Med. 68,566,(1948)
- 6) Pantlitschko, M. u. Kaiser, E. : Biochem.Zschr.Bd.322,
137-149,(1951)
- 7) Mathies, H. u. v.Werther, G. : Zschr.f.angew.Bäder-u.
Klimaheilk. 5.Jhrg.,503-515,(1958)
- 8) Mathies, H. : Med.Mschr. 10,685-688,(1958)
- 9) Mathies, H. : Zschr.f.die ges.exper.Med. 131,118-130,
(1959)
- 10) Mathies, H. : Arzneimittelforsch. 8,233,(1958)
- 11) Mathies, H. : Ärztl.Forsch. 12,I/87,(1958)
- 12) Mathies, H. u. Jankowski, A.: Klin.Wschr. 35,892,(1957)
- 13) Mathies, H. : Arch.Physikal.Ther. im Druck
- 14) Mathies, H. : Zschr.f.Rheumaforsch.Bd.18, Heft 5/6
205,(1959)
- 15) Bastani, S. : Diss.München in Vorbereitung
- 16) Mathies, H. : Arch.int.Pharmacodyn. No.1,CXX,(1959)
- 17) Scheufele, R. : Diss.München 1958
- 18) Terbrüggen, A. : Dtsch.med.J. 5,312,(1954)
- 19) Ders. : Ärztl.Praxis 6,40,(1954)
- 20) Abrahams, G. u. Glynn, J. : Clin.Sci. 8,171,(1949)
- 21) Evers, A. : Zit. Schliephake, E. u. Smets, R.
Münch.med.Wschr. 97,56,(1955)
- 22) Glick, D. u. Sylven, B. : Science 113,388,(1951)

- 23) Guerra, F. : Science 103, 696, (1946)
- 24) Hartmann u. Matijevic : Zschr.f.Rheumaforsch.
11, 23, (1952)
- 25) Jahnke : Ärztl.Wschr. 6, 1153, (1951)
- 26) Klemperer, A. : Amer.J.Med. 10, 405, (1951)
- 27) Meyer, K. : Physiol.Rev. 27, 335, (1947)
- 28) Rimington, C. : Ann.Rheumat.Dis. 8, 34, (1949)
- 29) Seifter, J. u. Mitarb. : Proc.Soc.Exper.Med.Biol.
72, 277, (1949)
- 30) Schoen, R. : Dtsch.med.Wschr. 77, 558, (1952)
- 31) Stepantschitz, G. : Öster. Ärztekongr. d. Van-Swieten-
Ges. Salzburg, Sept. 1953
- 32) Stepantschitz, G. u. Kresbach, E. : Zschr.f.Rheuma-
forsch. 13, 266, (1954)
- 33) Perlick, E. : Plasma (1953), 2
- 34) Bally, P.R. : Zschr.klin.Med. 148, 295, (1951)
- 35) Dorfman, E. : Ann.N.Y.Acad.Sci. 52, 1098, (1950)
- 36) Good, R.A. u. Glick, D. : J.Infect.Dis.Chicago
86, 38, (1950)
- 37) Grais, M.L. u. Glick, D. : J.Infect.Dis.Chicago
85, 101, (1949)
- 38) Stepantschitz, G. : Österr. Ärztekongr. d. Van-Swieten-
Ges. Salzburg, Sept. 1953
- 39) Terbrüggen, A. : Dtsch.med.J. 5, 312, (1954)
- 40) Mathies, H. : Med.Klin. 52, 1676, (1957)
(dort weitere Lit.)
- 41) Mathies, H. u. Gareiben : Med. Klin. eingereicht

Ich danke Herrn Professor Dr. W. Seitz für die Überlassung des Themas, Herrn Dr. H. Mathies für die Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit sowie Herrn Dipl.-Math. K. Liebrich für die statistische Auswertung der Versuchsergebnisse. Das Arzneimittelwerk Fischer Bühl/Baden stellte mir freundlicherweise die Badezusätze zur Verfügung.

L e b e n s l a u f

Als Tochter des Augenarztes Dr. med. Ernst Böhme und seiner Ehefrau Rosa, geborene Melber, wurde ich am 18. Januar 1931 in Jena (Thüringen) geboren. Nach dem Besuch von vier Klassen Volksschule in Rudolstadt trat ich Ostern 1941 in die Oberschule ein. Nach der Übersiedlung unserer Familie nach Augsburg besuchte ich ab 1947 die Oberrealschule mit Schülerheim Hohenschwangau, wo ich 1950 die Reifeprüfung ablegte. Von 1951 - 1953 war ich Schülerin der staatlich genehmigten privaten Fachschule für Chemotechniker von Dr. Hallermayer in Augsburg. Das staatliche Abschlußexamen bestand ich im April 1953. Im Wintersemester 1955/56 begann ich an der Ludwig-Maximilian-Universität München mit dem Studium der Medizin und bestand dort im Frühjahr 1958 die ärztliche Vorprüfung. Die klinischen Semester belegte ich ebenfalls in München. Das Staatsexamen möchte ich nach dem Wintersemester 1960/61 ablegen.

